aculeatus, lequel est devenu un petit arbre, respecté des Arabes qui le connaissent sous le nom de « ramâd » sauvage. Son charbon servirait à guérir le ramâd, la chassie des yeux. Dans cet arbrisseau si peu exigeant et qui, tout comme les *Zizyphus*, résiste aux sols les plus arides et aux plus mauvais traitements, il nous semble aussi avoir une espèce qui dans le passé était plus répandue et dont la rareté actuelle est due uniquement au déboisement effréné.

M. Laurent prend la parole pour la communication ci-dessous :

Du rôle de la glycérine dans les anomalies de structure qu'elle provoque chez le *Pisum sativum* L.;

PAR M. J. LAURENT.

Deux importantes publications, les *Recherches physiologiques sur les galles* de M. Molliard [1] et la *Genèse des matières protéiques et des matières humiques* de M. Maillard [2], ont rappelé mon attention sur des essais de culture de quelques Phanérogames sur glycérine que j'avais entrepris il y a une douzaine d'années et que les circonstances ne m'ont pas permis de poursuivre.

Déjà dans ma thèse [3] en 1903, mais surtout en 1904 dans une courte Note insérée aux Comptes Rendus de la Société de Biologie [4], j'avais montré que des solutions suffisamment concentrées de glycérine déterminent, chez le *Pisum sativum*, des anomalies de structure caractérisées à la fois par un accroissement du diamètre des cellules et par l'apparition d'une nouvelle couche génératrice, c'est-à-dire par des phénomènes d'hypertrophie cellulaire et d'hyperplasie présentant quelque analogie avec ceux qu'on observe lorsque la racine de cette Légumineuse est envahie par des *Rhizobium*.

Ma Note, trop succincte, n'avait été accompagnée d'aucun

1. Revue générale de Botanique, 1913.
2. Paris, 1913.
3. LAURENT (J.), *Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques*, Lille, 1903.
4. LAURENT (J.), *Action comparée de la glycérine et d'un parasite sur la structure des végétaux*, C. R. de la Soc. de Biologie, juin 1904.

dessin justificatif; et c'est sans doute la raison pour laquelle elle est restée ignorée des physiologistes. Aussi me permettra-t-on d'apporter ici, en la précisant et la rectifiant, quelques figures qui font ressortir ces modifications de structure, les plus profondes, à ma connaissance, qui aient été obtenues jusqu'alors dans des recherches d'anatomie expérimentale.

Je rappelle brièvement que mes cultures étaient faites sur une solution minérale renfermant les sels de la liqueur Detmer à la dose de 1 gr. par litre et additionnée de glycérine pure à raison de 5 p. 100. La stérilisation à l'autoclave et la transpiration de la plante ont eu pour conséquence d'élever la concentration qui atteignait finalement le voisinage de la limite supérieure que la plante ne saurait dépasser sans arrêt de croissance.

Je ne reviendrai ni sur la morphologie externe, ni sur les modifications de structure déjà signalées dans ma thèse; il me suffira de résumer les faits anatomiques les plus importants dont quelques-uns seulement avaient été énoncés dans ma Note de 1904.

On peut constater dans la racine :

1° La disparition de l'assise pilifère ; l'assise subéreuse ne s'est pas différenciée; il y a hypertrophie des cellules de l'écorce ; celles qui avoisinent l'endoderme et les cellules endodermiques elles-mêmes se sont notablement allongées dans le sens radial sur trois plages assez étendues en face des trois faisceaux ligneux primaires, c'est-à-dire sur le trajet même que doit suivre la solution nutritive pour arriver aux vaisseaux du bois; le nombre des assises cellulaires, qui est de 12 à 14 dans la solution minérale, atteint 18 à 20 dans les cultures sur la glycérine; l'épaisseur totale de l'écorce s'est accrue dans le rapport de quatre à onze;

2° Le cloisonnement tangentiel du péricycle qui compte, dans certaines coupes, jusqu'à 12 assises cellulaires et représente à lui seul près de la moitié du diamètre du cylindre central;

3° L'éclatement du cylindre central qui se déchire dans l'axe même de la racine sous l'influence des tensions déterminées par la turgescence de l'organe; alors les cellules restées à l'état de parenchyme au voisinage de la déchirure prennent un accroissement anormal et font hernie dans la cavité centrale;

4° La dislocation de certains faisceaux ligneux primaires dont les éléments sont séparés par des cellules parenchymateuses ayant pris un développement exagéré dans le sens radial;

5° Les faisceaux scléreux extralibériens ont subi le même sort, et les cellulles de parenchyme intercalées ont pris, après leur accroissement radial, des cloisonnements tangentiels;

6° La formation, en face des faisceaux ligneux primaires, de faisceaux libéro-ligneux secondaires qui ont une tendance à s'isoler des formations secondaires normales en constituant des faisceaux cylindriques à bois interne;

7° Enfin le même résultat peut être obtenu par hypertrophie des cellules vivantes situées près de l'axe de la racine, qui écartent l'un de l'autre les trois faisceaux libéro-ligneux secondaires.

Bon nombre de ces anomalies se retrouvent dans la tige, en particulier l'hypertrophie de tous les éléments, le cloisonnement du péricycle, la dislocation des paquets de fibres libériennes; j'y ajouterai la formation, jusqu'au sommet du deuxième entre-nœud, de nombreuses racines adventives.

Telles sont les modifications à peu près constantes apportées par la glycérine dans les tissus de la plante; la persistance de la structure primaire, que l'on retrouve avec ses caractères habituels, montre qne le cloisonnement des initiales de la racine continue à s'opérer normalement et que c'est seulement après différenciation du méristème subterminal que surviennent les anomalies.

Dans un lot de plantes où la concentration a sans doute été poussée plus loin, par suite d'une évaporation plus active, les modifications sont plus profondes. Vers l'extrémité de la racine, la structure du cylindre central est à peu près normale, on observe seulement les premiers cloisonnements de péricycle; les 3 faisceaux ligneux primaires dans leur différenciation centripète ne se sont pas développés jusqu'au centre de la racine où persistent quelques cellules de parenchyme figurant une moelle. Elles vont bientôt prendre, en même temps que tous les éléments non différenciés du cylindre central, un accroissement exagéré principalement dans le sens radial, déterminant des tensions qui amènent l'étirement et la compression des vaisseaux du bois. Sur des coupes transversales, ceux-ci prennent

la forme d'étroits fuseaux; les faisceaux ligneux primaires arrivent même à se bifurquer dans leur partie externe.

La moelle, devenue volumineuse, cloisonne ses cellules encore longtemps et va former, au centre de la racine, un massif fort important en dehors duquel sont placés les faisceaux ligneux tellement dissociés qu'il est bien difficile d'en retrouver les éléments.

En dedans des faisceaux libériens primaires l'assise génératrice libéro-ligneuse normale commence à fonctionner, différenciant quelques éléments de bois secondaire et à peine quelques éléments libériens; elle est fortement incurvée et ses flancs remontent jusqu'au niveau des fibres libériennes.

Dans le péricycle devenu très épais, çà et là quelques cellules volumineuses se divisent par des cloisons radiales et tangentielles donnant de petits massifs que l'on pourrait confondre, tant qu'ils sont jeunes, avec des faisceaux libériens en voie de formation; mais une sclérose hâtive ne tarde pas à les envahir comme elle envahit par endroits les cellules les plus internes du péricycle, se propageant de dedans en dehors en direction centrifuge.

Les faisceaux libériens et la zone génératrice libéroligneuse se trouvent dès lors enfermés dans un anneau scléreux presque continu formé à la fois de bois primaire, de bois secondaire et de sclérenchyme péricyclique et comme se poursuivent à l'intérieur les divisions cellulaires, la turgescence des éléments vivants refoule et aplatit les éléments scléreux qui donnent l'illusion, avec les cellules vivantes qui en occupent la partie centrale, de faisceaux cylindriques à liber interne.

La sclérose tend de plus en plus à se généraliser dans tout le cylindre central, et elle aurait amené vraisemblablement la mort de la plante si la culture avait été poursuivie assez longtemps.

Il y a loin sans doute de cette structure à la structure astélique des nodosités des Légumineuses, où l'on retrouve encore des faisceaux libéro-ligneux bien caractérisés enfermés isolément dans un péricycle et un endoderme typiques; et cependant diverses particularités permettent de rapprocher les caractères anatomiques présentés par mes cultures sur glycérine de ceux qui sont offerts par les nodosités.

Tout d'abord les recherches de MM. Van Tieghem et Douliot[1], confirmées ultérieurement par M. Vuillemin[2], ont mis en évidence que la formation des tubercules se fait aux dépens du péricycle de la racine-mère qui se cloisonne sous l'influence du *Rhizobium* ayant envahi l'écorce, comme pour donner naissance à une radicelle, et nous avons vu plus haut quelle importance prennent ces cloisonnements péricycliques dans les cultures sur glycérine. Puis les cellules de l'écorce s'hypertrophient et parfois on voit apparaître des divisions cellulaires dans l'endoderme ou les cellules voisines, comme j'en ai observé çà et là; dans l'un et l'autre cas, tout au moins au début du développement, la lignification est moins prononcée que dans les plantes normales; et, si la sclérose généralisée qui plus tard envahit la racine dans mes cultures ne se manifeste pas dans les nodosités, c'est du moins un phénomène qui marque fréquemment l'arrêt de croissance de bien des cécidies.

Si donc M. Molliard considère comme galles, bien que les phénomènes d'hyperplasie soient douteux, les structures qu'il a obtenues en cultivant le *Pisum sativum* sur bouillon de haricots dans lequel se sont développés des *Rhizobium*, on m'accordera volontiers d'appliquer la même expression aux productions expérimentales que je viens d'étudier. Au lieu de rester localisées au voisinage plus ou moins immédiat du parasite, elles se sont étendues à la racine tout entière et même à une partie de la tige. Pour choisir un terme de comparaison, je dirai qu'il existe, entre mes cultures sur glycérine et les nodosités des Légumineuses, une relation analogue à celle qu'on observe entre les racines de Radis devenues tuberculeuses sous l'influence des conditions de nutrition et les galles provoquées par la larve d'un coléoptère, *Ceuthorhynchus pleurostigma* Marsh, sur les racines d'un grand nombre de Crucifères.

Tels sont les faits sur lesquels il sera toujours facile de s'entendre; voyons maintenant les interprétations qu'on en peut donner; on me permettra peut-être d'aborder quelques hypo-

1. VAN TIEGHEM et DOULIOT, *Origine, structure et nature morphologique des tubercules radicaux des Légumineuses*, Bull. de la Soc. bot. de France, t. XXXV, 1888.

2. VUILLEMIN, *Les tubercules radicaux des Légumineuses*, Ann. Sc. agr., t. I, 1888.

thèses sous la réserve qu'elles seront susceptibles de contrôle expérimental et suggestives de recherches nouvelles.

En étudiant l'action de diverses substances organiques sur la structure anatomique, je me suis efforcé de distinguer l'influence de la pression osmotique, de l'action spécifique exercée par tel ou tel aliment, et je crois avoir établi[1], après Noel Bernard, que la concentration moléculaire du milieu de culture, par les troubles osmotiques qu'elle détermine au sein des tissus, est l'un des facteurs capables de provoquer, à la façon d'un déclenchement, les divisions cellulaires. Mais pour que se poursuivent les phénomènes d'hyperplasie, il est nécessaire d'assurer, vers les cellules génératrices, un apport constant de matières nutritives, sinon les cloisonnements seront bientôt interrompus ou les nouvelles cellules formées ne tarderont pas à mourir. Ainsi en cultivant le Haricot sur solution de chlorure de sodium à 1,5 p. 100, M. Beauverie[2] a bien provoqué le cloisonnement du péricycle, mais les cellules formées ont aussitôt subérifié leur paroi et une épaisse couche de liège s'est développée.

On peut donc admettre *a priori* que l'hypertrophie cellulaire et l'hyperplasie ne peuvent se poursuivre que si ces phénomènes sont consécutifs d'une élaboration active de matière vivante, c'est-à-dire, autant qu'on en peut juger dans l'état actuel de nos connaissances, de substances protéiques. Les recherches de M. Molliard sur les galles, les analyses nombreuses effectuées sur des tissus jeunes en voie de croissance y ont toujours décelé des doses élevées d'azote.

Réciproquement on peut espérer favoriser les multiplications cellulaires en réalisant, avec une concentration moléculaire suffisante, les conditions chimiques qui permettent une synthèse facile des matières albuminoïdes. Ainsi pourrions-nous trouver la raison des anomalies signalées si nous pouvions établir que la pénétration de la glycérine dans les tissus végétaux permet de réaliser cette synthèse au sein même des cellules vivantes.

1. LAURENT (J.), *Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques*, Lille, 1903. — *Les facteurs de la structure chez les végétaux*, Bull. de la Soc. d'ét. des sc. nat. de Reims, 1905, et Rev. génér. de Botanique, 1906.

2. BEAUVERIE (J.), *Influence de la pression osmotique du milieu sur la forme et la structure des végétaux*, C. R. de l'Acad. des Sciences, 22 octobre 1902.

Antérieurement à mes recherches, Wieler[1] avait fait quelques tentatives de cultures sur glycérine à des concentrations sensiblement inférieures (3 p. 100) à celles que j'ai employées, mais vraisemblablement en milieux non stériles; j'avais retenu néanmoins les résultats obtenus avec le *Phaseolus multiflorus* dont les racines coralloïdes rappellent les mycorhizes endotrophiques; malheureusement un dessin trop incomplet, où ne figurent ni l'écorce, ni le péricycle, ne permet pas d'apprécier la structure anatomique, mais on peut affirmer, sans trop d'hypothèse, que ces deux régions tout au moins présentaient une hypertrophie notable.

Comme il était facile de le prévoir, toutes les espèces expérimentées ne donnent pas les mêmes résultats; si j'ai constaté, dans des cultures de Lentilles, sur glycérine à 5 p. 100, une hypertrophie cellulaire et un retard dans la lignification, avec le Maïs je n'ai observé qu'une sclérose hâtive des parenchymes du cylindre central et même de l'écorce; et Wieler n'a retrouvé ni chez le Radis, ni chez l'*Helianthus annuus* les anomalies observées avec le Haricot.

Nous nous trouvons donc en présence de résultats qui n'ont été obtenus jusqu'alors qu'avec des plantes de la famille des Légumineuses; sans doute les essais n'ont porté que sur un très petit nombre d'espèces, et nous devons nous tenir en garde contre des généralisations trop hâtives; ne pourrions-nous cependant rechercher s'il n'existe pas, chez ces végétaux, quelque particularité qui les distingue des autres plantes expérimentées?

On sait que dans les graines de Légumineuses les réserves protéiques sont exceptionnellement abondantes et, au cours de la germination, leur désintégration donne naissance à des quantités notables d'asparagine. D'après Chodat[2], cette substance représenterait jusqu'à 25, 5 p. 100 du poids sec des plantules chez le *Lupinus albus* développé à l'obscurité.

D'autre part j'ai montré que, dans les cultures de Pois et Lentilles sur glycérine, il se forme d'importantes réserves d'amidon;

1. WIELER (A.), *Ueber Anlage und Ausbildung von Libriformfasern in Abhangigkeit von ausseren Verhältnissen*, Bot. Zeitung; 47e année, n° 34, 1889.
2. CHODAT (R.), *Principes de Botanique*, Paris, 2e édition, 1911, p. 96.

l'épiderme, les fibres libériennes et les vaisseaux du bois sont à peu près les seuls éléments qui en soient dépourvus, alors qu'on n'en rencontre pas dans les tissus des plantes développées sur solution minérale, l'endoderme de la tige excepté. L'amidon ainsi formé ne peut provenir des réserves de la graine, car je me suis assuré que les solutions concentrées en général, celles de glycérine en particulier, retardent leur digestion et leur utilisation.

Mais, en présence des hydrates de carbone, ou plus rigoureusement dans les conditions de l'assimilation chlorophyllienne, l'asparagine disparaît tandis que se reconstituent des albuminoïdes, et on pourrait imaginer qu'en donnant naissance à l'amidon la glycérine favorise indirectement la synthèse des substances protéiques; je ne pense pas cependant qu'il faille attribuer à cet amidon de réserve un rôle trop important dans la morphogénèse, car il est tout aussi abondant dans les plantes cultivées sur solutions de glucose, sans que se manifestent des troubles anatomiques.

Les travaux de M. Maillard nous permettent d'attribuer à la glycérine une action plus directe. En faisant réagir cette substance sur les acides α aminés tels que le glycocolle et ses homologues à la température de 170°, l'auteur a pu réaliser la synthèse de diverses matières protéiques et mettre en relief la généralité de la réaction. Une température élevée ne paraît même pas indispensable, et la synthèse s'opère encore lorsque, la réaction une fois commencée, on abaisse la température à 40°.

Au reste, comme le fait observer M. Maillard, on connaît dans les tissus vivants des accélérateurs de réactions que nous qualifions du nom de diastases, et qui permettent de réaliser, à basse température et en solution diluée, des synthèses ou des décompositions qui ne sont obtenues au laboratoire que par des procédés plus énergiques.

L'asparagine appartient précisément à la catégorie de ces acides aminés et peut-être pourrions-nous supposer qu'elle se combine plus facilement avec la glycérine qu'avec les hydrates de carbone pour réaliser ces matières azotées qui abondent dans les tissus hyperplasiés.

Ainsi pourrions-nous rapprocher le rôle de la glycérine de

celui des *Rhizobium* et les différences de structure obtenues proviendraient uniquement de l'inégale répartition, au sein des tissus, des deux agents, l'un chimique, l'autre vivant, qui élaborent les matières azotées.

Les bactéroïdes sont localisés au sein des *cellules spéciales* du parenchyme cortical, ils ne pénètrent jamais à l'intérieur des faisceaux; les recherches de M. Molliard montrent nettement que leurs sécrétions ne franchissent pas l'endoderme, aussi les faisceaux libéroligneux conservent leur structure normale. La pénétration de la glycérine est à coup sûr plus facile puisqu'elle amène la formation d'amidon dans tous les tissus vivants, et ainsi s'expliqueraient les troubles que nous avons constatés dans le cylindre central.

Si ces considérations sont justifiées, elles entraînent diverses conséquences que l'expérience devra confirmer :

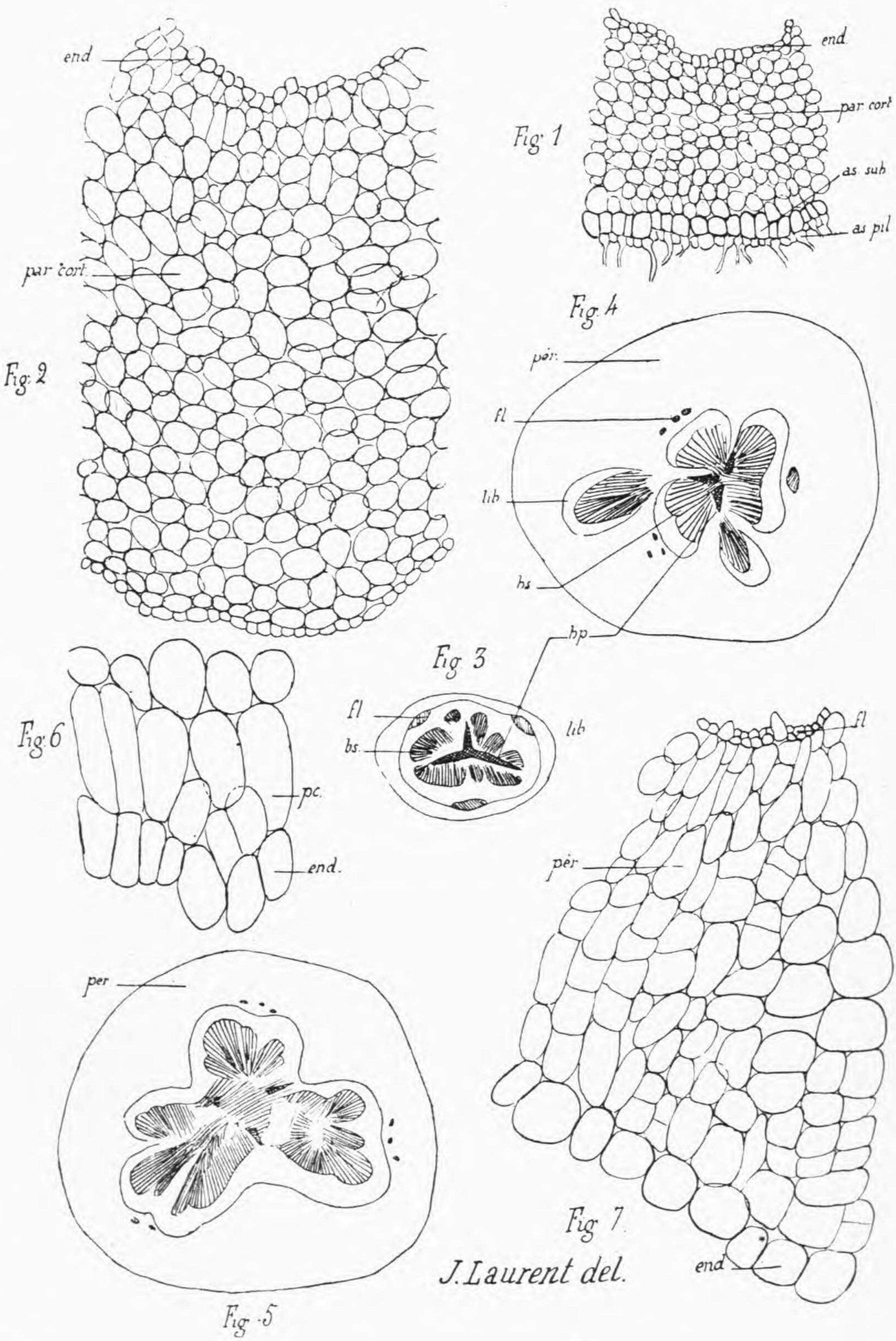
1° Il doit être difficile de déceler l'asparagine dans les germinations sur glycérine, car elle doit vraisemblablement être transformée en matières albuminoïdes à mesure de sa production;

2° Chez les végétaux dont les réserves azotées sont moins abondantes que chez les Légumineuses la culture sur glycérine et asparagine ou même sur glycérine et peptone en solutions suffisamment concentrées, en apportant dans les tissus les éléments nécessaires à la synthèse des albuminoïdes, doit non seulement favoriser la croissance, mais provoquer souvent des multiplications cellulaires et peut-être même des anomalies insoupçonnées.

D'autres combinaisons de substances nutritives pourront être imaginées facilement, telles que glucose et nitrates, etc., et les méthodes de culture en milieux organiques que j'ai inaugurées offrent un vaste champ de recherches à l'activité des botanistes.

Les végétaux porteurs de cécidies, par la facilité avec laquelle ils réagissent à une excitation locale, sont tout désignés pour des recherches de ce genre; dans une Note qui remonte à 1910[1] j'exprimais déjà l'opinion que la nutrition par des solutions organiques doit permettre une généralisation des déformations localisées au point d'introduction du parasite.

1. LAURENT (J.), *Quelques maladies de nos plantes cultivées*, Bull. de la Soc. d'étude des sc. nat. de Reims, année 1910.



Anomalies de structure du Pisum.